

HPLC-ICPMS 测定水产品中无机汞、甲基汞和乙基汞

ICPMS-083

摘要：建立了超声辅助提取、高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱（HPLC-ICPMS）联用测定水产品中汞形态的分析方法。样品在 5 mol/L 盐酸溶液和 0.1% L- 半胱氨酸体系下，超声萃取 60 min；以 3% 甲醇水溶液（含 0.04 mol/L 乙酸铵 +0.1% L- 半胱氨酸）为流动相，C18 反向色谱柱分离，使用 LC-20Ai 和 ICPMS-2030 同时检测水产品中无机汞、甲基汞和乙基汞。在 1~20 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性回归系数大于 0.999，无机汞、甲基汞、乙基汞检出限（3S/N）分别为 0.10~0.14 $\mu\text{g/L}$ ，方法检出限为 1.9~2.8 $\mu\text{g/kg}$ 。同时对水产品样品进行加标回收试验，回收率为 91.0~95.6%，形态汞测定值与总汞结果一致。该方法操作方便，适用于水产品及其制品中形态汞的分析。

关键词：HPLC-CP-MS 形态汞 甲基汞 乙基汞 水产品

汞是自然界中的有毒元素之一，是常温常压下唯一以液态形式存在的金属，沸点低、挥发性强，主要以汞元素（金属汞）、无机汞（汞盐）和有机汞 3 种形式存在。汞极少以纯金属状态存在，多以化合物形式存在，主要含汞矿物有朱砂（硫化汞）、氯硫汞矿、硫锑汞矿等。

常规环境中除无机汞（iHg）外，有机汞主要以甲基汞（MeHg）、乙基汞（EtHg）及苯基汞等形式存在。汞毒性大，脂溶性的甲基汞、乙基汞等毒性比无机汞更强，容易被水生生物体所吸收，通过食物链富集传递，导致水生生物体内汞浓度远超环境水体，处于食物链顶端的生物富集汞含量更高。鱼、虾、贝类等水产品是人体摄入汞的主要途径之一，《GB 2762-2017 食品安全

国家标准食品中污染物限量》规定了水产动物及其制品和肉食性鱼类及其制品的甲基汞限量分别为 0.5 和 1.0 mg/kg。

无机汞、甲基汞和乙基汞的分析方法主要有 LC-AFS 和 HPLC-ICPMS 等，AFS 法需要将色谱柱分离的有机汞在强氧化剂下转化为无机汞，而 HPLC-ICP-MS 方法选择性强，检出限和灵敏度良好，已成为汞形态分析的常用方法。

本文采用岛津高效液相色谱 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用同时分析水产品及其制品中的无机汞、甲基汞和乙基汞。

实验部分

1.1 对照品

汞标准溶液，1000 mg/L，美国 AccuStandard 公司；丙酮中氯化甲基汞溶液，1000 mg/L，美国 O2si 公司；甲苯中乙基汞溶液，10 mg/L，环境保护部标准样品研究所。

1.2 实验检材

扇贝，大虾和鱼干。

1.3 仪器

岛津高效液相色谱仪 LC-20Ai；电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030；电子天平；粉碎机；旋涡混合器；水浴超声机；低温高速离心机。

1.4 试剂

盐酸，乙酸铵，L- 半胱氨酸，甲醇，氨水。

方法和结果

2.1 对照品溶液配制

准确量取无机汞、甲基汞和乙基汞储备液适量，以流动相稀释为 0、1、2、5、10、20 $\mu\text{g/L}$ (以 Hg 计) 系列浓度的混合溶液。

2.2 样品的处理方法

将样品经破碎机粉碎，精确称取粉碎混匀的样品 1 g 于 15 mL 离心管中，加入 5 mol/L 盐酸溶液 10 mL (含 0.1% L-半胱氨酸)，涡旋摇匀；将样品常温水浴超声提取 60 min，期间振摇若干次；超声结束后取上清液 1 mL 于离心管中，缓慢逐滴加入约 0.7 mL 的 50% 氨水溶液，调节 pH 至 3~7，流动相定容至 2 mL，摇匀。放入离心机中 4°C 条件下 8000 rpm 离心 15 min，取上清液过 0.22 μm 滤膜备用。

2.3 分析条件

LC-20Ai 和 ICPMS-2030 仪器分析条件见表 1、表 2。

表1 液相色谱LC-20Ai条件

参数	设定值
色谱柱	Intertsil ODS-SP (C18) 5 μm , 4.6 mm \times 150mm
流动相	A相: 0.04 mol/L乙酸铵+0.1% L-半胱氨酸; B相: 甲醇
流速	1.0 mL/min
柱温	30 $^{\circ}\text{C}$
进样量	50 μL
洗针液	水
洗脱程序	等度洗脱 (A: B=97:3), pH 6.6

表2 液相色谱LC-20Ai条件

参数	设定值	参数	设定值
高频功率	1.20 kW	等离子体气流速	9.0 L/min
辅助气流速	1.10 L/min	载气流速	0.70 L/min
炬管类型	Mini	雾化器类型	同轴
雾化室	旋流	雾化室温度	5 $^{\circ}\text{C}$
采样深度	5.0 mm	高频频率	27.12 MHz

结果与讨论

3.1.1 色谱分离图

对空白进行考察排除系统干扰，并且考察混合标准溶液中无机汞、甲基汞和乙基汞的分离度，以确保实际样品分析过程中不存在假阳性检出。图 1 所示为标准溶液 (5 $\mu\text{g/L}$) 色谱分离图 (单位 kcps)，无机汞 (IHg)、甲基汞 (MeHg)、乙基汞 (EtHg) 保留时间分别为 2.16、3.24、6.20 min。

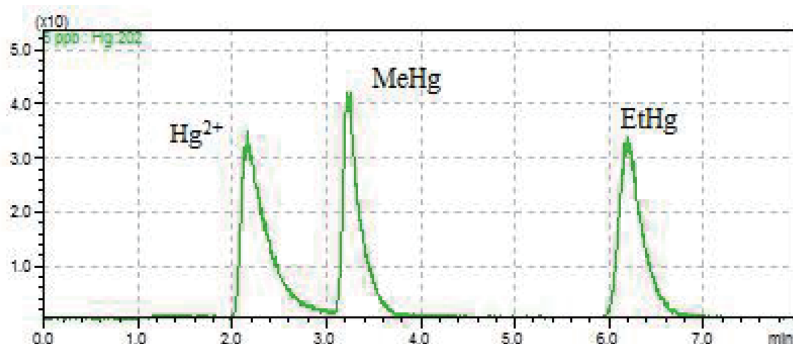


图1 三种形态汞色谱图 (浓度5 $\mu\text{g/L}$)

3.1.2 线性关系

根据色谱及质谱分析条件，依次测定各标准点，以无机汞、甲基汞和乙基汞浓度（以 Hg 计）对峰面积做线性回归曲线，标准曲线如图 2 至图 4 所示，在 1~20 $\mu\text{g/L}$ 范围内，线性相关系数均大于 0.999。

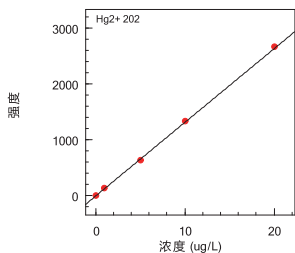


图2 无机汞标准曲线 ($r=0.9998$)

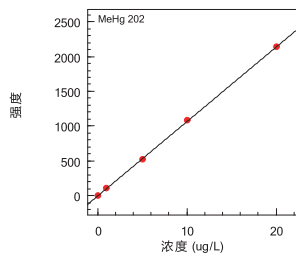


图3 甲基汞标准曲线 ($r=0.9998$)

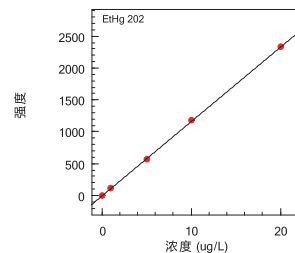


图4 乙基汞标准曲线 ($r=0.9999$)

3.1.3 检出限

对浓度为 1 $\mu\text{g/L}$ 的混合溶液考察无机汞、甲基汞、乙基汞的信噪比，以三倍信噪比 (3S/N) 峰高对应浓度作为检出限，三种形态汞 1 $\mu\text{g/L}$ 色谱图、基线及检出限结果分别见图 5、图 6 和表 3，三种形态汞方法检出限为 1.9~2.8 $\mu\text{g/kg}$ 。

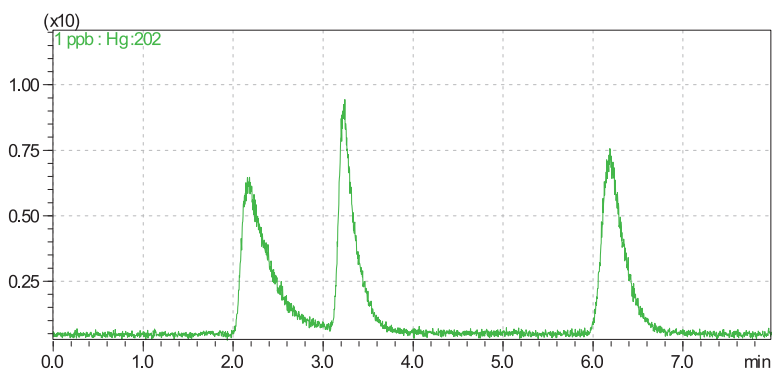


图5 三种1 $\mu\text{g/L}$ 形态汞色谱图

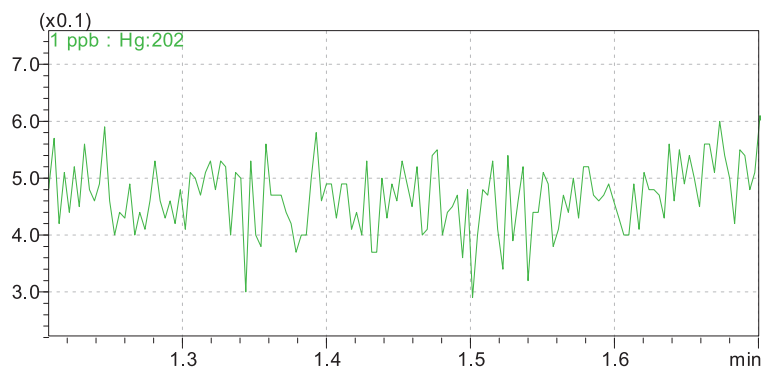


图6 色谱分离基线

表3 三种形态汞检出限

名称	仪器检出限 ($\mu\text{g/L}$)	方法检出限 ($\mu\text{g/kg}$)
无机汞 (iHg)	0.14	2.8
甲基汞 (MeHg)	0.10	1.9
乙基汞 (EtHg)	0.12	2.4

3.1.4 样品测试结果

取扇贝、大虾和鱼干样品，按照前处理步骤处理后进 HPLC-ICP-MS 分析，并对扇贝样品进行加标回收试验，样品谱图见图 7，测定结果见表 4 和表 5。如结果所示，水产品中汞主要以甲基汞形式存在，无机汞和乙基汞较少，无机汞、甲基汞和乙基汞加标回收率为 91.0~95.6%。扇贝和大虾样品中形态汞测定结果加和与总汞比值见表 6，从表中可知，形态汞测试结果加和与总汞值结果一致。

表4 水产品扇贝测试结果及回收率

形态	样品测定			加标回收		
	测定值 ($\mu\text{g/L}$)	RSD (n=6)	样品结果 ($\mu\text{g/kg}$)	加标量 ($\mu\text{g/L}$)	测定值 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)
无机汞 (iHg)	0.21	9.22%	4.17	2	2.12	95.6
甲基汞 (MeHg)	1.98	3.77%	39.5	2	3.89	95.5
乙基汞 (EtHg)	N.D.	-	N.D.	2	1.82	91.0

N.D.: 未检出

表5 大虾和鱼干中形态汞测定结果

形态	大虾		鱼干	
	测定值 ($\mu\text{g/L}$)	样品结果 ($\mu\text{g/kg}$)	测定值 ($\mu\text{g/L}$)	样品结果 ($\mu\text{g/kg}$)
无机汞 (iHg)	N.D.	N.D.	0.86	17.23
甲基汞 (MeHg)	2.79	55.8	3.93	78.5
乙基汞 (EtHg)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.: 未检出

表6 形态汞测定结果与总汞的比较 (单位 $\mu\text{g/kg}$)

名称	扇贝(GBW10024)	大虾 (GBW10050)
无机汞 (iHg)	4.17	N.D.
甲基汞 (MeHg)	39.5	55.8
乙基汞 (EtHg)	N.D.	N.D.
iHg+ MeHg+ EtHg	43.7	55.8
总汞	47 \pm 7	49 \pm 8

N.D.: 未检出

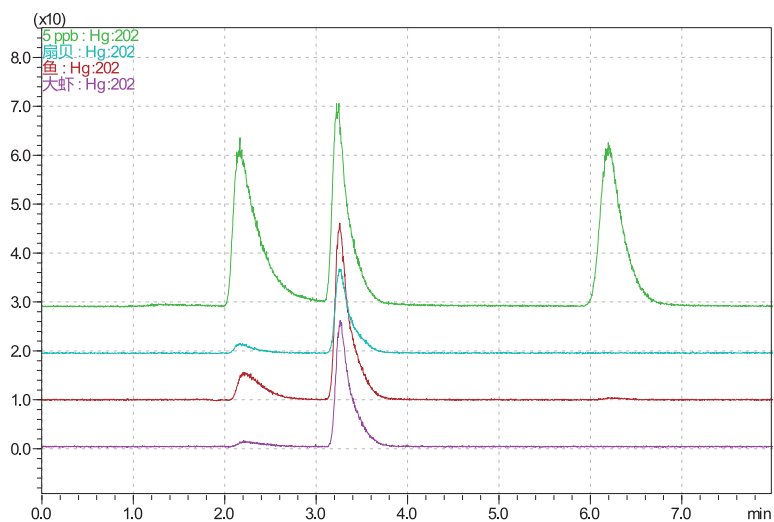


图7 扇贝、鱼和大虾样品谱图

■ 结论

建立了水产品中无机汞、甲基汞和乙基汞酸溶液超声辅助提取、高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱联用法 (HPLC-ICP-MS)。该方法检出限为 1.9~2.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，形态汞加和与总汞结果一致，适用于水产品及其制品中形态汞的分析。